

·综述·

星型胶质细胞源外泌体的研究进展

李苏亚,李在望,曹婷婷,张剑平

作者单位
南京医科大学附属
无锡市人民医院
神经内科
江苏 无锡 214023
收稿日期
2019-12-06
通讯作者
张剑平
zjp201907@126.
com

摘要 星形胶质细胞(AS)是中枢神经系统(CNS)中最主要的胶质细胞类型,在生理和病理状态下均发挥着复杂而重要的调节作用。AS在CNS中的各种调节功能与其分泌的外泌体密切相关。本文主要对AS源外泌体的研究进展进行综述。

关键词 星型胶质细胞;外泌体;神经系统疾病

中图分类号 R741;R741.02 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20191786

本文引用格式:李苏亚,李在望,曹婷婷,等.星型胶质细胞源外泌体的研究进展[J].神经损伤与功能重建,2020,15(6):344-346.

星形胶质细胞(astrocytes, AS)是中枢神经系统(central nervous system, CNS)中最丰富的胶质细胞类型,具有提供营养物质、调节细胞外离子浓度、协助神经元代谢等多种神经支持功能^[1,2]。AS对CNS的病理损伤(缺血缺氧、炎症、外伤、肿瘤等)极其敏感,并产生反应性增生,引发一系列病理生理改变。外泌体是细胞分泌的一种膜囊泡,在细胞通讯、疾病发生发展、生物标志物的载体等方面具有潜在功能。研究证实,AS在CNS生理和病理状态中发挥的功能都与其外泌体密切相关^[1,3,4]。本文将围绕AS源外泌体的发现、组成与功能及其在CNS疾病中的应用展开综述。

1 AS源外泌体的概述

1.1 AS源外泌体的发现及提取方法

二十世纪初,研究者们就发现了AS的强大分泌潜能^[5]。外泌体是一群直径为40~100 nm的脂质双分子层结构囊泡^[6,7],可由几乎所有类型的细胞分泌,包括神经元、小胶质细胞、少突胶质细胞、AS和神经干细胞^[8]。从2007年开始,陆续有研究小组发现AS培养液中存在外泌体^[9,10]。Taylor等^[9]发现AS在氧化作用和热应激下可释放外泌体,其形成过程先是由细胞质膜内陷形成胞内小泡,小泡进一步发展形成多囊泡体,在一定的刺激下多囊泡体与细胞质膜融合并释放到胞外,然后与其他细胞质膜融合并发挥作用。

目前已有严谨且成熟的方法来提取并鉴定生物样品中的AS源外泌体。一般通过收集细胞上清体外获取外泌体,主要提取方法有超速离心法、超滤法、梯度密度离心法、免疫磁珠法和试剂盒提取法等^[1,10]。目前常用超速离心法,以原代AS(用新生大鼠的皮质制备)为例,将AS条件培养基低速离心消除细胞碎片后,逐步提高离心速度获得沉淀,将所得沉淀在缓冲液中洗涤、重悬并再次超速离心取沉淀,即可初步得到外泌体。进一步采用免疫磁珠法纯化并保证其完整性^[10]。此外,还需要通过动态

光散射显示微泡群、透射电镜观察形状、Western blotting证实标记物、流式细胞术定量分析等方法验证所得到的微囊泡是AS源外泌体^[8,11]。

1.2 AS源外泌体的组成及功能

AS源外泌体是一个“纳米球”,腔内充满各种细胞蛋白、核酸、脂质、可溶性因子(包括细胞因子、趋化因子、酶和辅因子)^[10,12],可将供体细胞的信息通过其携带的蛋白质、mtDNA、miRNA等传递到周边的神经元和胶质细胞,实现神经细胞之间的信息交流及物质交换^[10,13]。早有实验发现,当胞外钾离子水平升高时,AS源外泌体释放突触蛋白-1,可能对神经突的生长和神经元的存活有积极的影响^[14]。也有报道称AS可能利用外泌体运输兴奋性氨基酸转运蛋白(excitatory amino-acid transporters, EAAT)-1和EAAT-2,该类蛋白是维持谷氨酸稳态的基本成分,进而维持神经内稳态^[15]。还有研究发现在AS源外泌体中有热休克蛋白70及AS特异性糖酵解酶的存在^[9,16]。这些蛋白是否可能转移到神经元中,从而对神经元的功能产生影响?近来有研究发现,在肌萎缩性侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)中,AS可通过外泌体释放有毒因子介导运动神经元死亡^[17]。当神经细胞受到一系列如缺氧、低血糖和缺血等应激损伤时,AS可释放含有非致病性朊蛋白(朊蛋白是一种可保护神经细胞免受氧化应激、缺氧、缺血和低血糖侵害的蛋白质^[18])的外泌体,这些外泌体可以转移到神经元内,起到神经保护作用^[19]。由上述的这些研究结果来看,AS源外泌体的确可以对神经元的功能产生一定的影响。

1.3 AS源外泌体在CNS疾病的病理生理过程中的作用

当AS受到炎症刺激时,可通过释放外泌体影响其他神经元或胶质细胞,进而推动或抑制病程发展。ALS是运动神经元病中最多见的类型,是一种慢性进行性神经系统变性疾病,表现为上、下运动神经元损害。AS在疾病进展中发挥着关键作

用^[20]。有人在家族性超氧化物歧化酶(copper-zinc superoxide dismutase, SOD)-1 突变型 ALS 的小鼠模型中研究发现,表达突变型 SOD1 的 AS 可通过分泌外泌体有效地将突变型 SOD1 转移到脊髓神经元,并选择性诱导运动神经元死亡^[17,21]。胶质母细胞瘤是成人最常见的原发性恶性脑肿瘤,异质性和侵袭性是其主要特征^[22]。已有证据表明,由脑瘤衍生的间充质干细胞分泌的外泌体与肿瘤进展密切相关,增强了肿瘤的侵袭性及恶性程度^[22-24]。有报道称,胶质瘤细胞分泌的外泌体,可以改变局部环境使肿瘤自身受益,利用邻近的 AS 促进肿瘤生长,甚至可能将 AS 转化为致瘤表型^[11],受到肿瘤影响的 AS 可通过分泌外泌体实现 miR-19a 的功能转移,进而抑制肿瘤抑制因子同源性磷酸酶(phosphatase and tensin homolog, PTEN)的表达,促进脑内瘤细胞的生长^[1,25]。帕金森病(Parkinson's disease, PD)是常见的神经退行性疾病,以路易小体黑质内选择性的多巴胺神经元变性为特征,而路易小体主要由 α -突触核蛋白和泛素化蛋白组成。神经源性外泌体可在神经元细胞和 AS 之间转移 α -突触核蛋白毒素,从而促进 PD 的传播。AS 中 α -突触核蛋白的沉积可引起炎症,并可通过 AS 源外泌体进一步传播到其他胶质细胞和神经元^[26],导致疾病逐渐发展。

2 AS 源外泌体的临床应用研究

2.1 AS 源外泌体可作为 CNS 疾病诊断的潜在生物标志物

AS 源外泌体反应了脑内 AS 的病理生理状态,并可在多数体液如外周血、尿液、脑脊液中检测到^[27]。其脂质双分子层的膜结构,也可保护其内容物如蛋白质、核酸等免受降解^[28]。因此研究者们推测 AS 源外泌体可能含有神经系统早期病理改变的关键信息,并可作为一种新的生物标志物贮存器。Hélène Ipas 等^[29]在研究胶质母细胞瘤时发现,正常 AS 源外泌体中含有的 2 种高水平 microRNA,在受胶质瘤影响后,含量明显下降。microRNAs 是一类丰富的内源性小分子非编码 RNA,通过抑制靶基因的表达来调控各种生物学过程^[30]。有人提出循环外泌体中的 microRNAs 可能是适合肿瘤诊断的生物标志物。因为外泌体膜保护它们免受降解,这些在外泌体中传递的 RNA 生物标记物也足够稳定^[28,29]。与此类似,在抑郁症、双相情感障碍这类精神疾病中,microRNAs 也是其潜在的生物标志物之一。在压力应激下,AS 分泌的外泌体中存在一些 microRNAs 的上调或下调^[4]。这些随病情波动而出现相应变化的 microRNAs(存在于 AS 源外泌体中)就可以作为这些精神疾病的生物标志物。

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种渐进性的神经退行性疾病,主要表现为认知能力的逐渐下降和记忆力的丧失。有研究发现,AS 分泌的富含神经酰胺的外泌体加剧了 AD 相关认知缺陷^[31]。神经酰胺是一种膜酯,由神经鞘氨醇长链碱基与脂肪酸组成,可在多种病理生理过程中发挥作用,包括细胞应激反应、炎症和细胞凋亡,同时它可随着促炎细胞因子的升高而上调^[31-33]。因此,富含神经酰胺的 AS 源外泌体可能是 AD 早期诊断的有力证据。

2.2 AS 源外泌体可作为 CNS 疾病的全新治疗手段

当神经细胞受到病理损伤时,AS 所释放的外泌体可携带具有神经保护作用的核酸、蛋白质,靶向作用于其他神经元或胶质细胞。且 AS 源外泌体可有效透过血脑屏障,如果将 AS 源外泌体制成药物,就能靶向对颅内的病灶区的神经细胞进行干预,从而抑制或逆转病程的发展,实现精准医疗。Kathrin Guitart 等^[19]在体外培养建立 AS 糖氧剥夺(oxygen-glucose deprivation, OGD)的模型时发现,AS 释放的外泌体中肌蛋白水平升高。该结果表明,当脑组织受到缺血缺氧刺激时,AS 释放含有肌蛋白的外泌体,这些外泌体可转移到神经元,进而产生保护作用。Mingyang Deng 等^[34]则通过由 H9 人类胚胎干细胞分化而来的神经元、胚胎干细胞、神经祖细胞和 AS,进行体外 OGD 模型以研究不同人神经细胞类型的外泌体对神经元的保护作用。比较发现,AS 源外泌体似乎比其他外泌体表现出更广泛的神经保护效应。此外,在 ALS 患者和 ALS 啮齿动物模型中可观察到谷氨酸转运蛋白 EAAT2 的严重选择性降低,促进了运动神经元变性的兴奋毒性。有人在最典型的 G93A SOD1 突变型 ALS 小鼠模型中发现,疾病终末期的小鼠脊髓组织中 miR-124a 选择性降低,而 AS 源外泌体介导的外源性 miR-124a 足以增加 G93A SOD1 突变型 ALS 小鼠脊髓 GLT1 蛋白的表达^[17,35]。这一结果提示携有 miR-124a 的 AS 源外泌体可能具有开发基于 GLT1 的 ALS 神经保护策略的潜力。

3 结语与展望

AS 源外泌体在神经生理、病理学中的作用有望成为一个新兴的研究领域。目前已有的研究表明,AS 源外泌体在神经系统中参与了许多重要的过程。正常生理条件下,AS 源外泌体的形成和释放可通过胞内外钾、钙等离子水平进行调控,而外泌体内携带的蛋白质、核酸等是维持神经内稳态的重要物质。病理环境下,炎症刺激 AS 增加或减少外泌体的释放,推动或抑制 CNS 疾病进展,而 AS 源外泌体内因子水平也可随病情发展特异性增高或降低,可作为诊治鉴别疾病的重要工具及预测疾病发展变化的生物标记物。然而,AS 源外泌体的专项研究仍然很少,各种研究成果尚停留在动物实验的阶段。因此,我们还需更全面、更深入的研究。在疾病诊断方面,需探索含特异性基因或表达蛋白的 AS 源外泌体以作为生物学标记物,如何根据外泌体中特异性因子水平的高低精准判断疾病进展阶段以及如何确保其特异性及稳定性是需要努力的目标;在治疗方面,需探索具有特异性治疗作用的 AS 源外泌体以实现定向治疗。此外,AS 源外泌体作为纳米级颗粒,能自由穿透血管壁、通过血脑屏障,有效避免单核巨噬细胞系统的吞噬,同时具有生物安全性、稳定性、作用靶向性等多项优点,如何将 AS 源外泌体修饰成治疗药物的载体、如何提高 AS 源外泌体的载药量、如何进一步修饰 AS 源外泌体以增强治疗效果,实现精准治疗,是未来的研究方向。

参考文献

[1] Lafourcade C, Ramirez JP, Luarte A, et al. MiRNAs in

Astrocyte-Derived Exosomes as Possible Mediators of Neuronal Plasticity [J]. J Exp Neurosci, 2016, 10: 1-9.

[2] Goetzl EJ, Mustapic M, Kapogiannis D, et al. Cargo proteins of plasma astrocyte-derived exosomes in Alzheimer's disease[J]. FASEB J, 2016, 30: 3853-3859.

[3] Pegtel DM, Peferoen L, Amor S. Extracellular vesicles as modulators of cell-to-cell communication in the healthy and diseased brain[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2014, 369: 1-9.

[4] Duarte A, Cisternas P, Caviedes A, et al. Astrocytes at the Hub of the Stress Response: Potential Modulation of Neurogenesis by miRNAs in Astrocyte-Derived Exosomes[J]. Stem Cells Int, 2017, 2017: 1-13.

[5] Verkhratsky A, Matteoli M, Parpura V, et al. Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion[J]. EMBO J, 2016, 35: 239-257.

[6] Zhang G, Yang P. A novel cell-cell communication mechanism in the nervous system: exosomes[J]. J Neuro Res, 2018, 96: 45-52.

[7] 郭斌, 韩琳琳, 贾延劫. 外泌体与中枢神经系统感染[J]. 中华医学杂志, 2017, 97: 2638-2640.

[8] Willis CM, Ménoret A, Jellison ER, et al. A Refined Bead-Free Method to Identify Astrocytic Exosomes in Primary Glial Cultures and Blood Plasma[J]. Front Neurosci, 2017, 11: 335-346.

[9] Taylor AR, Robinson MB, Gifondorwa DJ, et al. Regulation of heat shock protein 70 release in astrocytes: Role of signaling kinases[J]. Dev Neurobio, 2007, 67: 1815-1829.

[10] Guescini M, Genedani S, Stocchi V, et al. Astrocytes and Glioblastoma cells release exosomes carrying mtDNA[J]. J Neural Transm, 2010, 117: 1-4.

[11] Oushy S, Hellwinkel JE, Wang M, et al. Glioblastoma multiforme-derived extracellular vesicles drive normal astrocytes towards a tumour-enhancing phenotype[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2018, 373: 20160477.

[12] Whiteside TL. Exosome and mesenchymal stem cell cross-talk in the tumor microenvironment[J]. Semin Immunol, 2018, 35: 69-79.

[13] Kojima R, Bojar D, Rizzi G, et al. Designer exosomes produced by implanted cells intracerebrally deliver therapeutic cargo for Parkinson's disease treatment[J]. Nat Commun, 2018, 9: 316-317.

[14] Wang S, Cesca F, Loers G, et al. Synapsin I Is an Oligomannose-Carrying Glycoprotein, Acts As an Oligomannose-Binding Lectin, and Promotes Neurite Outgrowth and Neuronal Survival When Released via Glia-Derived Exosomes[J]. J Neurosci, 2011, 31: 7275-7290.

[15] Gosselin RD, Meylan P, Decosterd I. Extracellular microvesicles from astrocytes contain functional glutamate transporters: regulation by protein kinase C and cell activation[J]. Front Cell Neurosci, 2013, 7: 251.

[16] Sandoval M, Duarte A, Herrera-Molina R, et al. The glycolytic enzyme aldolase C is up-regulated in rat forebrain microsomes and in the cerebrospinal fluid after repetitive fluoxetine treatment[J]. Brain Res, 2013, 1520: 1-14.

[17] Basso M, Pozzi S, Tortarolo M, et al. Mutant Copper-Zinc Superoxide Dismutase (SOD1) Induces Protein Secretion Pathway Alterations and Exosome Release in Astrocytes[J]. J Biol Chem, 2013, 288: 15699-15711.

[18] Onodera T, Sakudo A, Tsubone H, et al. Review of studies that have used knockout mice to assess normal function of prion protein under immunological or pathophysiological stress[J]. Microbio Immuno, 2014, 58: 361-374.

[19] Guitart K, Loers G, Buck F, et al. Improvement of neuronal cell survival by astrocyte-derived exosomes under hypoxic and ischemic conditions depends on prion protein[J]. Glia, 2016, 64: 896-910.

[20] Jovicic A, Gitler AD. Distinct repertoires of microRNAs present in mouse astrocytes compared to astrocyte-secreted exosomes[J]. PLoS One, 2017, 12: e171418.

[21] Tang L, Ma Y, Liu XL, et al. Better survival in female SOD1-mutant patients with ALS: a study of SOD1-related natural history[J]. Transl Neurodegener, 2019, 8: 2.

[22] Figueroa J, Phillips LM, Shahar T, et al. Exosomes from Glioma-Associated Mesenchymal Stem Cells Increase the Tumorigenicity of Glioma Stem-like Cells via Transfer of miR-1587[J]. Cancer Res, 2017, 77: 5808-5819.

[23] Godlewski J, Ferrer-Luna R, Rooj AK, et al. MicroRNA Signatures and Molecular Subtypes of Glioblastoma: The Role of Extracellular Transfer[J]. Stem Cell Reports, 2017, 8: 1497-1505.

[24] Ricklefs F, Mineo M, Rooj AK, et al. Extracellular Vesicles from High-Grade Glioma Exchange Diverse Pro-oncogenic Signals That Maintain Intratumoral Heterogeneity[J]. Cancer Res, 2016, 76: 2876-2881.

[25] Zhang L, Zhang S, Yao J, et al. Microenvironment-induced PTEN loss by exosomal microRNA primes brain metastasis outgrowth[J]. Nature, 2015, 527: 100-104.

[26] Chistiakov DA, Chistiakov AA. alpha-Synuclein-carrying extracellular vesicles in Parkinson's disease: deadly transmitters[J]. Acta Neurol Belg, 2017, 117: 43-51.

[27] Zhang HG, Grizzle WE. Exosomes: a novel pathway of local and distant intercellular communication that facilitates the growth and metastasis of neoplastic lesions[J]. Am J Pathol, 2014, 184: 28-41.

[28] Zhang Y, Cai H, Chen S, et al. Exosomal transfer of miR-124 inhibits normal fibroblasts to cancer-associated fibroblasts transition by targeting sphingosine kinase 1 in ovarian cancer[J]. J Cell Biochem, 2019, 120: 13187-13201.

[29] Ipas H, Guttin A, Issartel JP. Exosomal MicroRNAs in Tumoral U87 MG Versus Normal Astrocyte Cells[J]. Microna, 2015, 4: 131-145.

[30] Chen B, Xia Z, Deng Y, et al. Emerging microRNA biomarkers for colorectal cancer diagnosis and prognosis[J]. Open biology, 2019, 9: 180212.

[31] Dinkins MB, Enasko J, Hernandez C, et al. Neutral Sphingomyelinase-2 Deficiency Ameliorates Alzheimer's Disease Pathology and Improves Cognition in the 5XFAD Mouse[J]. J Neurosci, 2016, 36: 8653-8667.

[32] Gomez-Munoz A, Presa N, Gomez-Larrauri A, et al. Control of inflammatory responses by ceramide, sphingosine 1-phosphate and ceramide 1-phosphate[J]. Prog Lipid Res, 2016, 61: 51-62.

[33] Shamseddine AA, Airola MV, Hannun YA. Roles and regulation of neutral sphingomyelinase-2 in cellular and pathological processes[J]. Adv Biol Regul, 2015, 57: 24-41.

[34] Deng M, Xiao H, Peng H, et al. Preservation of neuronal functions by exosomes derived from different human neural cell types under ischemic conditions[J]. Eur J Neurosci, 2018, 47: 150-157.

[35] Morel L, Regan M, Higashimori H, et al. Neuronal exosomal miRNA-dependent translational regulation of astroglial glutamate transporter GLT1[J]. J Biol Chem, 2013, 288: 7105-7116.

(本文编辑:唐颖馨)

·消息·

更正

刊登于《神经损伤与功能重建》第15卷,第2期,91-94页(2020年2月出版)的论著《抑郁症患者事件相关电位P300与健康问卷-9评分的相关性及其临床意义分析》(作者:刘贺,南彩,马思梦,翟云云,康丽君,刘忠纯)中的表1数据更正:
表1中的PHQ-9得分,对照组应为(3.03±2.48)分,抑郁组应为(18.03±4.71)分。
特此更正。